

THESIS

MUNICH 1965

**Über den Einfluß
von D-3-Phosphoglycerat-Natrium auf den
Stoffwechsel gesunder Ratten**

Johanna Jannuli

AUS DEM UROLOGISCHEN KRANKENHAUS DER STADT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. F. May

**Über den Einfluß
von D-3-Phosphoglycerat-Natrium auf den
Stoffwechsel gesunder Ratten**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Johanna Jannuli
Volos (Griechenland)

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.,Doz.,Dr.,Dr.E. MATOUSCHEK

Mitberichterstatter: Prof.,Dr.,F. MAY

Dekan: Prof.,Dr.,O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 3. 1965

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

A. EINLEITUNG

B. PROBLEMSTELLUNG

1. Physiologie der Niere
2. Zusammensetzung der Körperflüssigkeit
3. Stoffwechsel der C_3 -Körper

C. MATERIAL UND METHODIK

D. ANALYSEN

1. Bestimmungen im Serum
2. Bestimmungen im Vollblut
3. Bestimmungen im Urin

E. VERSUCHE UND ERGEBNISSE

1. Kontrollversuche
2. Hauptversuche

F. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

G. ZUSAMMENFASSUNG

LITERATURVERZEICHNIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154008_0087

EINLEITUNG

Neuerdings hat man versucht festzustellen, ob bei urämischen (nephrektomierten) Tieren nach Injektion von D-3-Phosphoglycerat-Natrium eine Verbesserung der Stoffwechsellage eintritt.

Zu Vergleichszwecken ist die Kenntnis des Verhaltens gesunder Versuchstiere nach Applikation von D-3-Phosphoglycerat-Natrium wertvoll. Derartige Untersuchungen sind der Inhalt vorliegender Arbeit.

PROBLEMSTELLUNG

Physiologie der Niere

Die Niere hat im wesentlichen zwei Hauptaufgaben zu erfüllen.

- a) Die Ausscheidung von Stoffwechselschlacken
- b) Die Konstanterhaltung und Regulation des "Milieu interne" (Claude Bernard)

Diese Funktionen werden von zwei Mechanismen ausgeführt.

1. Filtration (in den Glomeruli)
2. Rückresorption (in den Tubuli)

Die glomeruläre Filtration stellt den ersten Prozeß der Harnbildung dar. Da die tubuläre Ausscheidung von zahlreichen Substanzen bewiesen ist, wurde die LUDWIG-CUSHNY'sche Theorie der Harnbereitung, die auf der Filtrations-Rückresorptions-Theorie beruhte, erweitert zu einer Filtrations-Exkretions-Rückresorptions-Theorie. Nach dieser Theorie wird durch den Blutdruck im Glomerulus ein Ultrafiltrat (Primärharn) abgepreßt. Das Filtrat enthält alle Bestandteile des Blutes, außer den kolloidalen Substanzen. Der hydrostatische Druck, durch den Blutdruck in den Arteriolen hervorgerufen, ist für den Filtrationsvorgang notwendig. Dieser hydrostatische Druck (70 mm Hg) muß größer sein als der onkoti-

sche Druck (30 mm Hg), welcher durch eine einseitige Konzentration von Proteinmolekülen entsteht, da die meisten Proteinmoleküle die semipermeable Membran nicht passieren. Außerdem ist noch ein intrarenaler Druck von etwa 10 mm Hg zu überwinden, so daß aus den gemachten Angaben ein effektiver Filtrationsdruck von etwa 30 mm Hg errechnet wird.

Man nimmt an, daß der Filtrationsdruck im Glomerulus durch differentielle Konstruktion des Vas afferens und efferens geändert werden kann (34), wodurch ein etwa auftretender Blutdruckabfall zum Teil ausgeglichen werden kann.

Es kann daher die Bildung des Filtrats einerseits durch hämodynamische Faktoren einschließlich des Gesamtblutdrucks, andererseits durch die Veränderung des onkotischen Drucks im Plasma und durch den interstitiellen Druck bei pathologischen Zuständen beeinflusst werden (34). RICHARDS und Mitarbeiter (1924) haben in ihren Versuchen durch direkte Punktion der Glomeruluskapsel an lebenden Kaltblütern den Beweis erbracht, daß es sich um eine reine Filtration handelt. Das Punktat war fast eiweißfrei und eine quantitative Analyse ergab einen mit dem Plasma übereinstimmenden Gehalt an Glucose, Chlorid, Phosphat, Harnstoff, Harnsäure und Kreatinin. Es wurde auch die molare Konzentration, die elektrische Leitfähigkeit und das P_H des Punktates wie im Plasma gefunden. Es gelang in weiteren Versuchen, auch die Tubuli zu punktieren. Es wurde festgestellt, daß die Glucose im proximalen Tubulus dem Harn entzogen wird. Es handelt sich um eine reine Rückresorption ohne Sekretionsvorgänge, wobei aber eine begrenzte Transportkapazität der Tubuluszellen besteht (49).

WALKER und OLIVER beschrieben 1941 eine Methode der Glomerulus- und Tubuluspunktion am Säugetier. In diesen Versuchen gewann man auch ein Ultrafiltrat, von dem im proximalen Tubulus Wasser, Glucose und wahrscheinlich auch zum großen Teil Chloride und Natrium rückresorbiert werden.

Der osmotische Druck bleibt trotz der verschiedenen Änderungen im proximalen Tubulus konstant (51). Es wird angenommen, daß bei normalen erwachsenen Menschen pro min etwa 120-140 cm³ Primärharn gebildet werden.

Die Menge des Glomerulusfiltrates ist leider nicht direkt experimentell ermittelt, sondern nur indirekt berechnet worden. In der Literatur finden sich für die Mengen gebildeten Primärharnes in 24 Stunden Werte zwischen 180 Litern (GUSH NY 1926) und vier Litern (FREY und FREY 1950).

Der Primärharn enthält wie das Plasma dieselbe Konzentration nicht eiweißhaltiger Bestandteile per Volumeneinheit Wasser. Es ist jedoch anzunehmen, daß der Primärharn nicht völlig eiweißfrei ist, sondern daß die Glomerulus-Membran

kleine Mengen von Proteinen durchläßt, die wiederum von den Tubuluszellen rückresorbiert werden. Experimentelle Versuche erbringen den Beweis dafür (42). Der größte Teil des Primärharns wird im Tubulus rückresorbiert. Neuere Ergebnisse lassen annehmen, daß diese Rückresorption zu etwa 80 % im proximalen Tubulus erfolgt.

Ausscheidung von Natrium und Chlorid

Na^+ und Cl^- werden im proximalen und zum Teil im distalen Tubulus rückresorbiert. Es wird angenommen, daß unter normalen Bedingungen 85 % des filtrierten Natriums in dem Proximaltubulus, im allgemeinen zusammen mit Chloriden, rückresorbiert werden, wobei auch etwa 85 % des filtrierten Wassers passiv nachfolgen. Die Rückresorption der restlichen 15 % an Na^+ und Cl^- sowie des Wassers erfolgt entsprechend den Bedürfnissen des Körpers im distalen Tubulusbereich und dem Sammelrohrsystem.

Nach den Untersuchungen des Arbeitskreises um WESSON, ANSLOW und SMITH 1948 handelt es sich bei der Rückresorption von Natrium im proximalen Tubulus um einen aktiven Prozeß, denn die Natriumrückresorption findet gegen einen Konzentrationsgradienten zwischen Urin und Plasma statt. Während aber die Transportkapazität der Tubuli für bestimmte Stoffe (Glucose usw.) unter physiologischen Bedingungen begrenzt ist, und ein T_m angegeben werden kann, ist das für Na^+ wahrscheinlich nicht der Fall (45). Das liegt zunächst daran, daß mehrere Prozesse mit unterschiedlicher Beeinflußbarkeit und Abhängigkeit beteiligt sind. Dabei spielt die jeweilige Verfügbarkeit von gleichzeitig resorbierbaren Anionen eine wesentliche Rolle, ebenso die Konzentration von H^+ in den Tubuluszellen, da ein Austausch von Na^+ gegen H^+ stattfinden kann. Weiter ist die Rückresorptionskapazität der Tubuluszellen für Na^+ abhängig von den Nebennierenrindenhormonen.

Die Ausscheidung von Kalium

Die genauen dynamischen Vorgänge des Kalium-Transportes sind bis heute noch nicht völlig geklärt. Man kann jedoch annehmen, daß das Kalium des Primärharns zunächst wahrscheinlich im Proximaltubulus völlig rückresorbiert wird und daß das Kalium des Blasenharns auf Sekretionsvorgängen im distalen Tubulus beruht. Die Sekretion des Kaliums durch die Tubuluszellen wird heute als sichere Tatsache angesehen (3).

Aminosäure - Rückresorption

Die Aminosäuren (46) werden fast vollständig rückresorbiert und erst im Urin ausgeschieden, wenn die maximale Transportkapazität des tubulären Apparates überschritten wird.

Harnstoffausscheidung

Nach van SLYKE und DOLE, CHASIS und SMITH u. a. wird angenommen, daß der Harnstoff im Glomerulus zunächst filtriert wird, um dann im Tubulussystem in gewisser Abhängigkeit von dem Ausmaß der Diurese in das peritubuläre Blut zurückzudiffundieren.

Bicarbonat - Rückresorption

Die als Bicarbonat gebundene CO_2 -Kapazität des Serums, die auch Alkalireserve genannt wird, beträgt etwa 24-28 mval/l. Nach PITTS und Mitarbeitern (1949) tritt eine Bicarbonatausscheidung im Harn erst auf, wenn der Plasmaspiegel 28 mval/l übersteigt.

PITTS und seine Mitarbeiter (45) haben in ihren Arbeiten gefunden, daß die Säuerung des Harns nicht durch Resorption von Alkali geschieht, sondern durch aktive Ausscheidung von Wasserstoff-Ionen in den tubulären Harn. Sie wiesen darauf hin, daß diese Wasserstoff-Ionen wahrscheinlich aus der Kohlensäure entstammen, die in der Tubuluszelle unter dem Einfluß des Enzyms Kohlensäure-Anhydrase durch Verbindung von Wasser und dem Kohlendioxyd entsteht. Nach diesem Schema beginnt die Konservierung des Natriums im proximalen Tubulusabschnitt durch Austausch von H^+ für Na^+ , das mit dem Primärfiltrat als Natriumbicarbonat aus dem Plasma in den Tubulus gelangte.

Bei dem Austausch von Wasserstoff-Ionen für Natrium bleibt das Bicarbonat-Ion unresorbiert, obwohl das Endresultat einer Resorption gleichkommt. Das Bicarbonat-Ion und das Wasserstoff-Ion verbinden sich zu Kohlensäure, die dann im Wasser und Kohlendioxyd dissoziiert wird. Das CO_2 diffundiert später in die Tubuluszellen zurück. Das Endergebnis ist die Resorption der Bicarbonat-gebundenen Base auf dem Wege des Wasserstoff-Ionenaustausches.

Phosphat - Rückresorption

Die Ausscheidung von anorganischem Phosphat beim Hund ist von PITTS und ALEXANDER (1944) ausführlich untersucht worden. Die Untersuchungen haben gezeigt, daß die Rückresorption von Phosphat durch ein tubuläres Maximum be-

schränkt ist, welches bei einem Plasmaspiegel von 7 mg% erreicht wird. Wenn das filtrierte Phosphatangebot auf Grund erhöhter Filtration oder Serumkonzentration ansteigt, kommt es zu einer Überbeanspruchung des tubulären Transportmechanismus für Phosphate, und somit gelangen die Überschußphosphate in den Endharn.

Bei Infusion von Phosphatesteren, wie Fructose-1,6-diphosphat, Glycerophosphat und Phosphoglycerinsäure kommt nach der Filtration anscheinend auch eine tubuläre Sekretion von anorganischem Phosphat vor. Die genannten Phosphatester können als solche ebenfalls tubuläre sezerniert werden (49).

Der Tubulusapparat (46) ist imstande, aktiv zu sezernieren. Das gilt unter anderem für viele Fremdstoffe, die nicht nur durch Filtration allein, sondern auch durch zusätzliche Sekretion ausgeschieden werden. Ebenso wie die Rückresorption kann auch die Sekretion ein gewisses Maß nicht überschreiten. Mit Hilfe von Fremdstoffen (Parabrodil, PAH= p-Aminohippursäure) läßt sich die Funktionstüchtigkeit des tubulären Apparates prüfen, indem man die maximale sekretorische Transportkapazität bestimmt.

Zusammensetzung der Körperflüssigkeiten

Die Gesamtflüssigkeit des Körpers eines gesunden erwachsenen Mannes beträgt in Abhängigkeit vom Fettgehalt durchschnittlich 61 %, die einer Frau - unter denselben Voraussetzungen - 51 % des Körpergewichts (36).

Man unterscheidet zwei Gruppen von Körperflüssigkeiten,

1. die Extracellulärflüssigkeit, die etwa 16 % des Körpergewichts beträgt,
2. die Intracellulärflüssigkeit, die etwa 45 % des Körpergewichts beträgt.

Die Extracellulärflüssigkeit wird wieder in das Plasma (die intravasale Flüssigkeit) und in die interstitielle Flüssigkeit unterteilt, die durch die Gefäßwand der Kapillare im ständigen wechselseitigen Austausch miteinander stehen. Das Plasma beträgt 4 % (Evanblue-Methode) und die interstitielle Flüssigkeit etwa 12% des gesamten Körpergewichts. Ein Vergleich der molaren Konzentrationen niedermolekularer Substanzen (Glukose, Harnstoff, Aminosäuren und andere organische Verbindungen) und Elektrolyte im Plasma und interstitieller Flüssigkeit zeigt weitgehende Übereinstimmung mit Ausnahme des höheren Gehalts des Plasmaeiweißes im intravasalen Anteil. Anders liegen die Verhältnisse bei der intracellulären Flüssigkeit. Die Gesamtkonzentration aller Elektrolyte in die Zelle soll zwar derjenigen des Extracellulärtraumes gleich sein, jedoch ist deren Zu-

sammensetzung eine völlig andere.

Die Zusammensetzung der extracellulären und intracellulären Körperflüssigkeiten ist in Abb. 1 dargestellt, wobei die Werte in mval pro Körperflüssigkeit angegeben sind. In der Extracellulärflüssigkeit ist das Natrium das Hauptkation und das Chlorid das Hauptanion, während in der Intracellulärflüssigkeit das Kalium das Hauptkation und die Sulfate, Phosphate und das Eiweiß als die wichtigsten Anione zu nennen sind. Man nimmt an, daß trotz der Verschiedenheit in der Zusammensetzung der Ionen das osmotische Gleichgewicht zwischen der Extracellulär- und Intracellulärflüssigkeit auf beiden Seiten der Zellmembran gleich ist (34).

Heute weiß man -ausgehend von Versuchen mit radioaktiven Isotopen als Tracer- daß es sich bei den zwischen Zellen und Außenflüssigkeit bestehenden Konzentrationsunterschieden nicht, wie man früher angenommen hatte, um statische, sondern um dynamische Gleichgewichte handelt.

Daraus folgt die Notwendigkeit der Annahme eines aktiven energieverbrauchenden Transportmechanismus, welcher einer passiven Diffusion entgegenwirkt und die Konzentrationsunterschiede der einzelnen Ionen zwischen Intra- und Extracellulärraum aufrechterhält.

Ein ständig anhaltender intracellulärer Kalium-abpompender und Natrium-abschiebender Prozeß wirkt jeder Änderung der Konzentrationsgradienten entgegen und gewährleistet die dynamische Stabilität dieses Systems.

Stoffwechsel der C_3 -Körper

In den lebenden Zellen und Organismen finden zahlreiche Reaktionen statt, die eine Zufuhr von Energie erfordern (z.B. Biosynthesen). Die energieverbrauchenden Reaktionen müssen offenbar mit energieliefernden Reaktionen gekoppelt sein.

Als energieliefernde Reaktionen kommen in den höheren Organismen vor allem die Oxydation von Kohlenhydraten und Fetten evtl. auch Proteinen zu CO_2 und H_2O (sowie bei Proteinen zusätzlich NH_3) in Betracht. LIPMANN (29) und KALKAR (21) haben gezeigt, daß die universell verwertbare Form der chemischen Energie in der Zelle das energiereich gebundene Phosphat ist. Adenosintriphosphat (ATP) ist der Prototyp der energiereichen Phosphatverbindungen, das zwei dieser Bindungen enthält. Die Bildung von energiereich gebundenem Phosphat geschieht durch die unmittelbare Koppelung der Prozesse der biologischen Oxydation mit einer phosphorylierenden Reaktion, durch die aus anorganischem Phosphat und Adenosindiphosphat (ADP) das Adenosintriphosphat (ATP) entsteht. Bei der Hy-

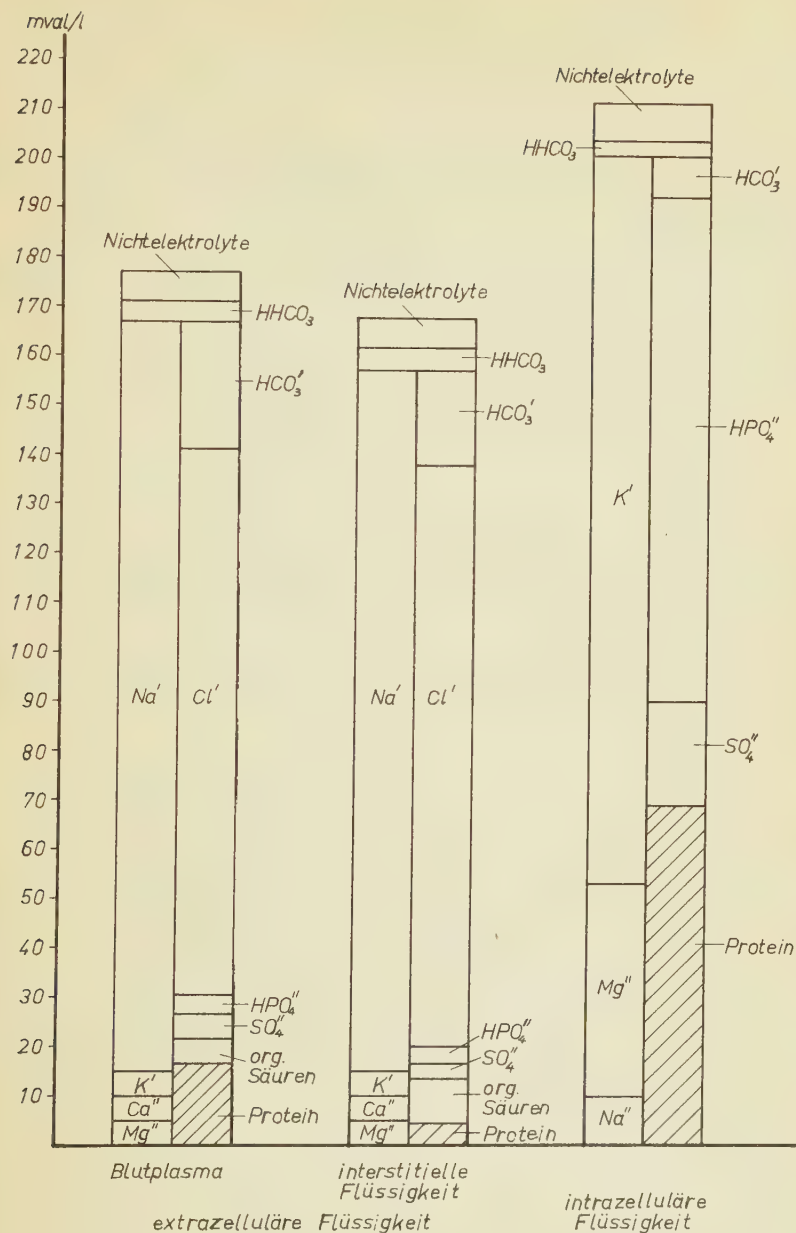


Abb. 1 Zusammensetzung von Blutplasma, interstitieller Flüssigkeit und intrazellulärer Flüssigkeit

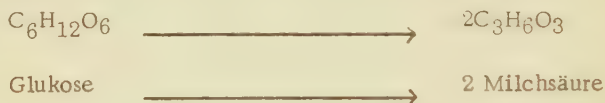
hydrolyse des ATP entsteht pro Bindung eine freie Energie von ca.

$$\Delta G_o = - 7\,000 \text{ cal/Mol}$$

wobei die Größe von ΔG_o vom P_H und der Temperatur abhängt. Man kennt zwei Typen von Reaktionen, bei denen der Katabolismus mit einer Phosphorylierung energetisch gekoppelt ist.

Der eine Prozeß ist die Glykolyse und der andere die Atmung oder Atmungsketten-Phosphorylierung.

Als Glykolyse wird der anaerobe Abbau der Kohlenhydrate im Organismus zu Milchsäure bezeichnet.



Der aerobe Stoffwechsel verläuft auch über zahlreiche Stufen der Glykolyse und unterscheidet sich eigentlich nur durch die Verwendung der reduzierten Coenzyme und der Brenztraubensäure.

Der aerobe Abbau der Kohlenhydrate führt in Verbindung mit dem Citronensäurezyklus zu CO_2 und H_2O :



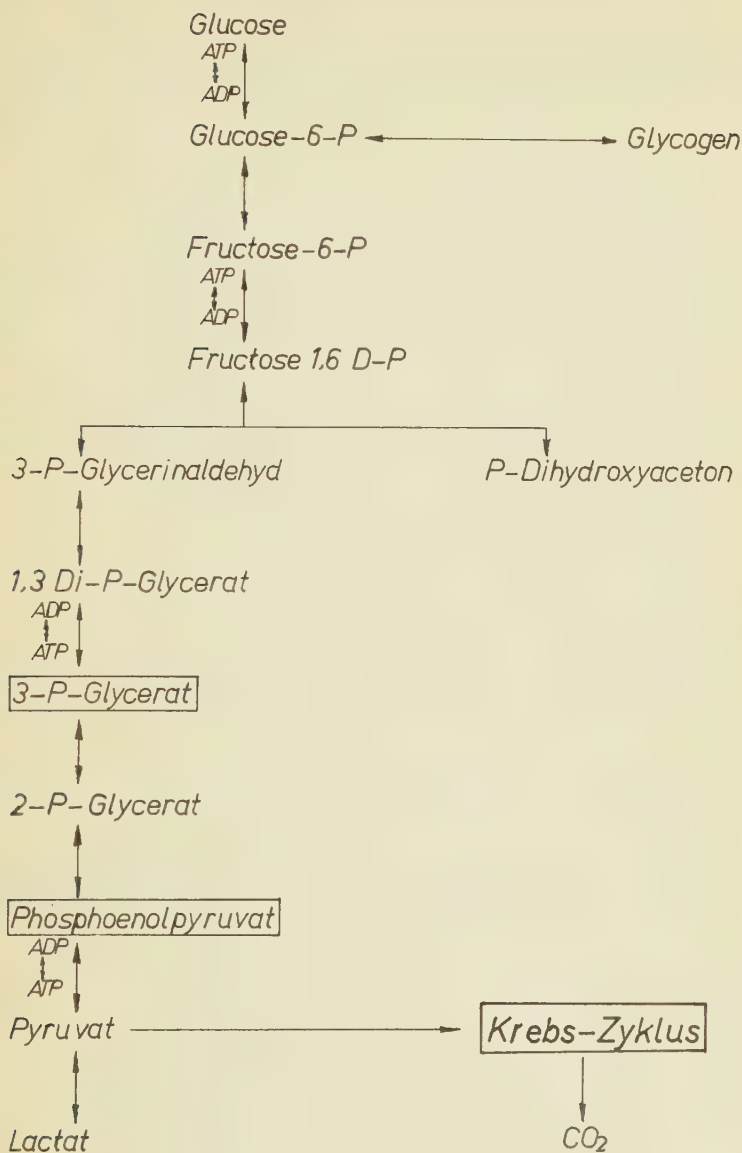
Uns interessiert hauptsächlich nur der Stoffwechsel der C_3 -Körper (Abb. 2), weil wir Ratten als Versuchstieren 3-Phosphoglycerat-Natrium injiziert haben.

Bei dem Abbau der Kohlenhydrate zerfällt die phosphorylierte Hexose in zwei Moleküle Triosephosphat. Das Triosephosphat wird dehydriert.

Die Dehydrierung von 3-Phosphoglycerinaldehyd wird durch das Enzym Triosephosphat-Dehydrogenase bewirkt und führt zu 1,3-Diphosphoglycerinsäure, wobei DPN^+ als Wasserstoffacceptor dient und gleichzeitig anorganisches Phosphat organisch gebunden wird.



Abb. 2 Schema der Glycolysekette



Die Acylphosphatgruppe wird weiter unter Freisetzung der Carboxylgruppe gespalten und die Phosphatgruppe durch das Enzym Phosphoglycerinsäure-Kinase auf ADP übertragen. Es entsteht 3-Phosphoglycerinsäure und ATP (Substratketten-Phosphorylierung).

Die Phosphatübertragung wird nach folgender Reaktion durchgeführt:



Nach BÜCHER ist die Gleichgewichtskonstante

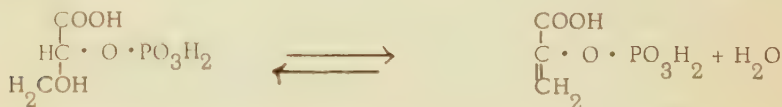
$$K = \frac{(\text{ATP}) (3\text{-Phosphoglycerat})}{(\text{ADP}) (1,3\text{-Diphosphoglycerat})} = 3,3 \cdot 10^3$$

Durch das Ferment Phosphoglyceromutase wird 3-Phosphoglycerinsäure (3-PG) in 2-Phosphoglycerinsäure (2-PG) übergeführt.

Die Gleichgewichtsverteilung von $\frac{3\text{-PG}}{2\text{-PG}}$ in Frochmuskelextrakt entspricht einem Verhältnis von 82,5 % 3-Phosphoglycerinsäure zu 17,5 % 2-Phosphoglycerinsäure (39).

In Kaninchenmuskel- und Hefeextrakt findet man ein Verhältnis für $K = \frac{3\text{-PG}}{2\text{-PG}}$ von 7,3 bis 2,3 je nach Temperatur (60° bis 0°) (40).

In einer weiteren Teilreaktion wird durch das Enzym Enolase 2-Phosphoglycerinsäure unter H_2O -Abspaltung (Dehydratisierung) in Phosphoenolbrenztraubensäure umgewandelt.



Die Wirksamkeit der Enolase ist abhängig von zweiwertigen Metallionen (Mg^{++}).

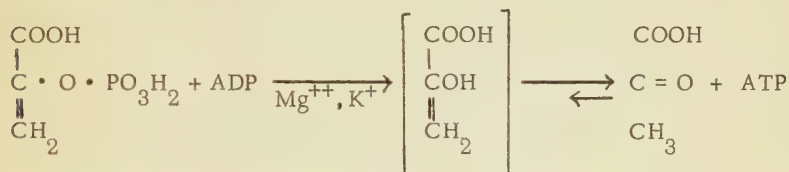
Die Enolasereaktion führt zu einem Gleichgewicht.

Nach AKANO (1) ist die Gleichgewichtskonstante bei 28°

$$K = \frac{\text{Phospho-enol-brenztraubensäure}}{\text{2-Phosphoglycerinsäure}} = 2,3$$

Schließlich wird die Phosphoenolbrenztraubensäure dephosphoryliert.

Das Phosphat wird durch Pyruvat-Kinase auf ADP übertragen, wobei Brenztraubensäure und ATP entstehen.



Das Gleichgewicht ist weit nach rechts verschoben; die Gleichgewichtskonstante ist nach MEYERHOF und OESPER $2 \cdot 10^3$ bei 30°C.

MATERIAL UND METHODIK

Die Versuche wurden an männlichen etwa 4 Monate alten weißen Laboratoriumsratten mit einem Körpergewicht von 200 bis 250 gr. durchgeführt. Die Ratten wurden vor dem Versuchsbeginn 4-5 Tage unter Standardkost gehalten. Sie erhielten täglich 30 g Rattenfutter "Murinal" und Wasser ad libidum.

Bei den Experimenten wurde D-3-Phosphoglycerat-Natrium in die Schwanzvene der Tiere injiziert.

Summenformel des D-3-Phosphoglycerates $C_3H_4O_7PNa_3$:

Mol-Gewicht 3-PG- Na_3 = 252,1

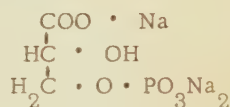
Mol-Gewicht 3-PG- H_3 = 186,1

Gehalt an 3-PG = 57,2 %

$P_{\text{anorg.}}$ = 0,37 %

P_{Gesamt} = 9,9 %

Natrium = 22,1 %



Die Entblutung der Tiere wurde in flacher Äthernarkose durch Eröffnung der Herzspitze durchgeführt.

Wie unter "Analysen" beschrieben, wurde ein Teil der Untersuchungen im Serum durchgeführt, ein anderer Teil im Vollblut, das mit einem gleichen Volumen 8%iger Perchlorsäure enteiweißt worden war.

Die Ratten wurden in Stoffwechselkäfige eingesetzt, die es ermöglichten, den Urin zu sammeln. Der Urin wurde mit Perchlorsäure, wie unter "Analysen" beschrieben, enteiweißt.

Die Bestimmung von Pyruvat, Phosphoenolpyruvat, 2-Phosphoglycerinsäure und 3-Phosphoglycerinsäure wurde enzymatisch mit Lactat-Dehydrogenase, Pyruvat-Kinase, Enolase und Phosphoglyceromutase vorgenommen. Die genannten Substanzen wurden von der Firma C.F.Boehringer und Söhne, Mannheim, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Abkürzungen

PEP = Phosphoenolpyruvat

2-PG = 2-Phosphoglycerinsäure

3-PG = 3-Phosphoglycerinsäure

LDH = Lactatdehydrogenase

PGM = Phosphoglyceromutase

PK = Pyruvatkinase

DPN^+ = Diphosphopyridinnucleotid

DPNH = reduziertes Diphosphopyridinnucleotid

ADP = Adenosindiphosphat

ATP = Adenosintriphosphat

1. Bestimmungen im Serum

Im Serum wurde bestimmt:

- a) die Elektrolyte: Natrium und Kalium,
- b) das anorganische und Gesamtphosphat.

Um eine ausreichende Serummenge zur Durchführung der Analysen zu gewinnen, war es notwendig, jeweils das Blut zweier Tiere zu verwenden. Die gefundenen Ergebnisse stellen somit einen Mittelwert aus dem Blut zweier Tiere dar.

ad a) Die Konzentrationen des Na^+ und K^+ im Serum wurden mit dem Flammenphotometer "Eppendorf" gemessen.

ad b) Die Bestimmungen des anorganischen Phosphats und Gesamtphosphats wurden mit Hilfe des Photometers "Eppendorf" nach dem Prinzip von C. H. FISKE und Y. SUBBAROW (13) durchgeführt.

Durch Reduktion mit Metol wird Phosphorammoniummolybdat in "Molybdänblau" übergeführt. Nach Zugabe von Natriumacetat wird die Reduktion abgestoppt, so daß eine Stabilisierung der entstandenen Färbung erreicht wird. Die Extinktion wird im Photometer "Eppendorf" bei 578 m μ und 20 mm Schichtdicke gemessen.

2. Bestimmungen im Vollblut

Im Vollblut wurden bestimmt:

Pyruvat, Phosphoenolpyruvat, 2-Phosphoglycerinsäure und 3-Phosphoglycerinsäure.

Von jeder Ratte wurden sofort nach Eröffnung der Herzspitze je 1,0 ml Blut in ein vorbereitetes Reagenzglas mit 2 ml 8%iger Perchlorsäure (HClO_4) gegeben, die Mischung nach jeder Zugabe gut gerührt und abzentrifugiert. Das Volumen wurde abgelesen, dann wurde tropfenweise 2 n KOH unter gutem Rühren zugegeben, bis $\text{pH} = 6,5$ erreicht war, was mit dem Spezialindikatorpapier "Merck" $\text{pH} = 5,4$ bis 7 geprüft wurde. Danach wurde das Volumen erneut abgelesen. Die Mischung wurde 1/2 - 1 Stunde kaltgestellt und der Überstand von der Fällung abdekantiert und 1 ml zum Test auf Pyruvat, PEP, 2-PG und 3-PG eingesetzt.

Der Meßvorgang beruht auf der enzymatisch-optischen Methode nach WARBURG und CHRISTIAN (47). Die Ausführungsform wurde von CZOK und ECKERT (9) beschrieben.

1. Pyruvat + DPNH $\xrightarrow[\text{PK}]{\text{LDH}}$ Milchsäure + DPN⁺ (Indikator-Reaktion).
2. PEP + ADP $\xrightarrow{\text{PK}}$ Pyruvat + ATP (weiterer Ablauf wie 1).
3. 2-PG $\xrightarrow{\text{Enol}}$ PEP (weiterer Ablauf wie 2 und 1).
4. 3-PG $\xrightarrow{\text{PGM}}$ 2-PG (weiterer Ablauf wie 3, 2 und 1).

Zur Vereinfachung des Ablaufs wurde Schritt 3 und 4 zusammengelegt, so daß die Enzyme Enolase und PGM gleichzeitig zugesetzt wurden.

Die Ergebnisse enthalten deshalb die Summe von 2-PG und 3-PG, im folgenden als 2 + 3-PG bezeichnet.

Testansatz

In eine Küvette (1 cm Lichtweg) wurde pipettiert:

- 1,57 ml Puffer-Lösung (Triäthanolamin-hydrochlorid-Puffer 0,05 M, P_H 7,6)
- 0,15 ml MgSO₄ + KCl
- 0,1 ml ADP
- 0,1 ml DPNH
- 0,02 ml 2-3-Di-PG
- 1,00 ml Probelösung

Der Versuchsvorgang ist folgender:

Mit unten abgeflachtem Glas- oder Kunststoff-Stab wird die Lösung gemischt und bei 366 mμ die Extinktion E₀ abgelesen. Darauf Zugabe von 0,01 ml LDH, mischen, Extinktionsabnahme verfolgen, bis keine Änderung mehr stattfindet. E₁ ablesen. Nun Zugabe von 0,01 ml PK, mischen, wieder die Extinktionsabnahme bis zu dem gleichbleibenden Wert verfolgen, E₂ ablesen. Schließlich Zugabe von 0,02 ml Enol und 0,02 ml PGM, mischen, Extinktionsabnahme verfolgen bis keine Änderung stattfindet, E₃ ablesen.

Berechnung:

$$\frac{(E_0 - E_1) \times 78,6}{\text{Vol. der Probelsg.}} = \mu\text{g Pyruvat/ml Probelösung}$$

$$\frac{(E_1 - E_2) \times 151}{\text{Vol. der Probelsg.}} = \mu\text{g PEP/ml Probelösung}$$

$$\frac{(E_2 - E_3) \times 168,5}{\text{Vol. der Probelsg.}} = \mu\text{g 2+3-PG/ml Probelösung}$$

Das im Test erhaltene Ergebnis (μg/ml Probelösung) wird mit folgendem Faktor multipliziert:

$$\mu\text{g/ml Probelösung} \cdot \frac{\text{Vol. Blut} + \text{Vol. HClO}_4}{\text{Vol. Blut}} .$$

$$\frac{\text{Vol. nach KOH-Zugabe}}{\text{Vol. vor KOH-Zugabe}} = \mu\text{g/ml Blut.}$$

3. Bestimmungen im Urin

Im Urin wurden wie im Serum bestimmt:

- a) Die Elektrolyte: Na^+ und K^+
- b) Anorganisches und Gesamtphosphat
- c) Pyruvat, PEP und 2+3-PG

Die Urinanalysen wurden nach folgender Arbeitsmethode durchgeführt: das Auffanggefäß der Stoffwechselkäfige enthielt 5 ml 8%ige HClO_4 . Nach 24 Stunden wurde das in dem Gefäß aufgefangene Flüssigkeitsvolumen gemessen und entsprechend dann HClO_4 nachgegeben, damit gleiche Volumina Urin und HClO_4 erreicht wurden (vergleiche Seite 21).

Die Flüssigkeit wurde gut gemischt und der sich bildende Niederschlag abzentrifugiert. Vom Überstand wurde ein Teil für die Kalium-, Natrium- und Phosphatbestimmung entnommen.

- a) Die Bestimmungen des Na^+ und K^+ wurden mit dem Flammenphotometer "Eppendorf" durchgeführt.
- b) Zur Bestimmung des anorganischen Phosphats wurden 0,2 ml des enteiweißten Harns in ein 20 ml-Meßgefäß einpipettiert und mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Weiter wurden 2 ml Amoniummolybdatlösung, sowie 1,0 ml Metolreduktionslösung zugegeben und gemischt. Nun ließ man die Lösung genau 10 Minuten (gerechnet vom Zeitpunkt der Mischung an) stehen. Nach Beendigung der Reduktionszeit wurden 4,0 ml Natriumacetatlösung dazu gegeben, mit Wasser auf 20,0ml aufgefüllt und gemischt. Nach 5 Minuten wurden die Extinktionen im Photometer "Eppendorf" (Lichtfilter 578 m μ , Schichtdicke 20 mm) gemessen (13).

Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$E \cdot 13,0 \cdot \frac{1}{\text{ml z. Test}} \cdot \frac{\text{Vol. Harn} + \text{Vol. HClO}_4}{\text{Vol. Harn}}$$

= mg% anorg. Phosphat im Harn

Zur Bestimmung des Gesamthosphats wurden 0,1 ml des enteiweißten Harns eingesetzt. Veraschung und Bestimmung erfolgten nach dem Prinzip von C. H. FISKE und Y. SUBBAROW (13)

Im 50ml-Quarzrundkolben wurden 0,1 ml enteiweißter Harn mit 1,0 ml Nitriersäure verascht. Zunächst wurde etwa 3-5 Minuten mit kleiner Flamme erhitzt, damit die Salpetersäure möglichst lange oxydierend einwirken konnte. Sodann erhitzte man stärker, bis sich die ersten SO_3 -Nebel zeigten, kühlte ab und gab ca. 3-5 ml Wasser hinzu, wobei gleichzeitig die Gefäßwandungen sorgfältig abgespült wurden. Jetzt wurde weiter erhitzt, bis die im Kolben zurückbleibende Schwefelsäure wasserhell aussah. Nach abermaligem SO_3 -Rauchen wurde wieder abgekühlt, 3-5 ml Wasser aufgenommen und noch 3 Minuten gekocht, jedoch ohne einzudampfen. Nach beendeter Veraschung wurde das Veraschungsgut quantitativ (mit einem Minimum an Wasser) in ein 20 ml Meßgefäß übergeführt und der Lösung 1-2 Tropfen p-Nitrophenollösung als Indikator zugesetzt. Unter Mischen wurde langsam 2 n Natronlauge zum Farbumschlag auf ein deutliches Gelb (Verbrauch 3-4 ml Lauge) zugegeben. Die neutralisierten Lösungen wurden mit je 2,0 ml Amoniummolybdatlösung und je 1,0 ml Metolreduktionslösung versetzt. Weitere Testung und Berechnung erfolgten wie bei der Bestimmung des anorg. Phosphats (s.o.) beschrieben wurde.

c) Bestimmungen von Pyruvat, PEP und 2+3-PG.

Von der Hauptmenge des Urins, die nach der Abtrennung der für die vorerwähnten Bestimmungen erforderlichen Proben verblieb, wurde das Volumen gemessen. Dann wurde tropfenweise unter gutem Rühren 2 n KOH zugesetzt, bis ein P_H -Wert von 6,5 erreicht war, was mit dem Spezialindikatorpapier "Merck" $\text{P}_\text{H} = 5,4$ bis 7,0 gemessen wurde.

Sodann wurde erneut das Volumen gemessen, die Probe für 1/2 - 1 Std. kaltgestellt und dann der Überstand abdekantiert. Von diesem wurden 0,5 ml für Kontrollversuche und 0,2 ml für Hauptversuche zum Test eingesetzt. Die weitere Bestimmung erfolgt in der für Vollblut angegebenen Weise.

1. Kontrollversuche

In einem Stoffwechselkäfig wurden für 24 Stunden jeweils zwei Ratten eingesetzt. Sie erhielten kein Futter, aber Wasser ad libitum. Die Wegnahme des Futters war notwendig, um den Urin sauber zu halten. Nach 24 Stunden wurden die Ratten entblutet. Es wurden im Mittel 8-10 ml Blut gewonnen und die oben erwähnten Analysen durchgeführt.

Gleichzeitig wurden die Urinalysen durchgeführt. Man erhielt 10-15 ml Urin von zwei Ratten in 24 Stunden.

2. Hauptversuche

Unmittelbar vor dem Einsetzen in die Stoffwechselkäfige wurden bei jeder Ratte unter flacher Äthernarkose i. v. 100 mg 3-PG-Na entsprechend 0,96 mval als 5%ige Lösung injiziert. Die Tiere sind unter den gleichen Bedingungen gehalten, wie wir schon bei den Kontrollversuchen angegeben haben. Nach 24 Stunden wurden die Ratten entblutet. Bei einer anderen Gruppe von 8 Tierpaaren wurde jeder Ratte i. v. 100 mg 3-PG-Na in 5%iger Lösung appliziert, die Entblutung erfolgte im Gegensatz zur ersten Gruppe 2 Stunden nach Injektion. Die Analysen bei diesem Versuch wurden nur im Serum und Vollblut durchgeführt. Auf die Urinalysen mußte verzichtet werden, da in einer solch kurzen Zeit zu wenig Urin von den Ratten produziert worden war.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen I und II und Abbildungen III und IV mitgeteilt.

Die Meßwerte wurden im Mittelwert $\pm$ doppelte Standardabweichung, d. h. $\pm$ Normalbereich angegeben.

Es zeigte sich, daß im Serum die Konzentration von Pyruvat und PEP 2 Stunden nach Injektion von 3-PG-Na vom Leerwert nicht nennenswert verschieden war, während sie 24 Stunden nach Injektion sogar leicht unter dem Leerwert lagen.

2+3-PG war 2 Stunden nach Injektion gegenüber dem Leerwert signifikant erhöht ($P < 0,01$). Nach 24 Stunden lag praktisch der Normalwert vor. Bei Panorg blieb der Wert nach 2 Stunden unverändert, nach 24 Stunden war er geringfügig gesteigert.

Sowohl der Wert 2 Stunden, als der 24 Stunden nach Injektion lag bei P_{gesamt}

höher als der Leerwert. Diese Differenzen waren signifikant (bei $2^h P < 0,05$, bei $24^h P < 0,02$).

Bei Na^+ war ein Anstieg um 16 mval/l 2 Stunden nach Injektion festzustellen, er betrug 24 Stunden nach Injektion immerhin noch 5 mval/l. Diese Unterschiede waren signifikant (bei $2^h P < 0,01$, bei $24^h P < 0,02$).

Bei Kalium trat nach Injektion von 3-PG-Na keine Änderung auf.

Im Urin war nach 24 Stunden gegenüber dem Leerwert Pyruvat um 11,2 $\mu\text{g/ml}$, PEP um 6,6 $\mu\text{g/ml}$ angestiegen.

Mit Ausnahme der Werte P_{anorg} und P_{gesamt} war eine statistische Signifikanz der 24 Stundenwerte gegenüber den Nullwerten festzustellen. Nachfolgend sind die Einzelergebnisse aufgeführt.

Pyruvat	$P < 0,001$
PEP	$P < 0,001$
2 + 3 - PG	$P < 0,001$
Na^+	$P < 0,001$
K^+	$P < 0,001$

Nimmt man eine Verteilung der applizierten Menge auf 50 ml EZR an, so läßt sich errechnen, welcher Prozentsatz des verabreichten Natriums sich nach 2 bzw. 24 Stunden noch im EZR befindet.

Da die durchschnittliche Urinausscheidung einer Ratte unter den gewählten Versuchsbedingungen 5,8 ml in 24 Stunden beträgt, ließ sich auch annähernd die ausgeschiedene Gesamtmenge der einzelnen Metabolite errechnen und in Beziehung zur verabreichten Menge setzen, falls diese vollständig und unverändert im Urin erscheinen würde. So ist es möglich, Aussagen über die Verteilung und die Umwandlungen des 3-PG-Na zu machen. Tabelle III und IV geben darüber Aufschluß, SS. 27 u. 28).

TABELLE I
Konzentrationswerte in Blut bzw. Serum

Leerwerte		3-PG-Na 2 Std. n. Injektion	3-PG-Na 24 Std. n. Injektion
Pyruvat	($\mu\text{g/ml}$)	$\bar{x} = 15,0 \pm 13,9$ n = 7	$\bar{x} = 17,1 \pm 8,0$ n = 8
PEP	($\mu\text{g/ml}$)	$\bar{x} = 1,9 \pm 2,0$ n = 7	$\bar{x} = 1,9 \pm 0,7$ n = 8
2 + 3 - PG	($\mu\text{g/ml}$)	$\bar{x} = 9,8 \pm 4,2$ n = 7	$\bar{x} = 13,7 \pm 5,1$ n = 8
P anorg.	(mg%)	$\bar{x} = 8,5 \pm 1,8$ n = 7	$\bar{x} = 8,5 \pm 2,6$ n = 8
P gesamt	(mg%)	$\bar{x} = 13,8 \pm 2,0$ n = 7	$\bar{x} = 16,2 \pm 4,6$ n = 8
Na	(mval/l)	$\bar{x} = 164 \pm 1,5$ n = 7	$\bar{x} = 180 \pm 11,9$ n = 8
K	(mval/l)	$\bar{x} = 5,5 \pm 0,7$ n = 7	$\bar{x} = 5,5 \pm 0,5$ n = 8
			$\bar{x} = 11,9 \pm 10,1$ n = 9
			$\bar{x} = 1,4 \pm 0,8$ n = 9
			$\bar{x} = 10,0 \pm 5,0$ n = 9
			$\bar{x} = 8,8 \pm 2,8$ n = 9
			$\bar{x} = 16,5 \pm 4,5$ n = 9
			$\bar{x} = 169 \pm 9,4$ n = 9
			$\bar{x} = 5,5 \pm 0,7$ n = 9

TABELLE II

Konzentrationswerte im Urin

		3 - PG - Na 24 Std. n. Injektion	
Leerwerte			
Pyruvat	($\mu\text{g/ml}$)	$\bar{x} = 11,8 \pm 4,1$ n = 5	$\bar{x} = 23,0 \pm 8,6$ n = 10
PEP	($\mu\text{g/ml}$)	$\bar{x} = 4,5 \pm 0,7$ n = 5	$\bar{x} = 11,1 \pm 6,8$ n = 10
2 + 3 - PG	($\mu\text{g/ml}$)	$\bar{x} = 29,9 \pm 12,4$ n = 5	$\bar{x} = 119,6 \pm 962,6$ n = 10
P _{anorg.}	(mg%)	$\bar{x} = 511,8 \pm 122,2$ n = 5	$\bar{x} = 550,8 \pm 163,1$ n = 10
P _{gesamt}	(mg%)	$\bar{x} = 585,2 \pm 108,7$ n = 5	$\bar{x} = 675,8 \pm 207,5$ n = 10
Na	(mval/l)	$\bar{x} = 71,8 \pm 26,1$ n = 5	$\bar{x} = 122,0 \pm 40,0$ n = 10
K	(mval/l)	$\bar{x} = 73,0 \pm 7,4$ n = 5	$\bar{x} = 86,0 \pm 10,6$ n = 10

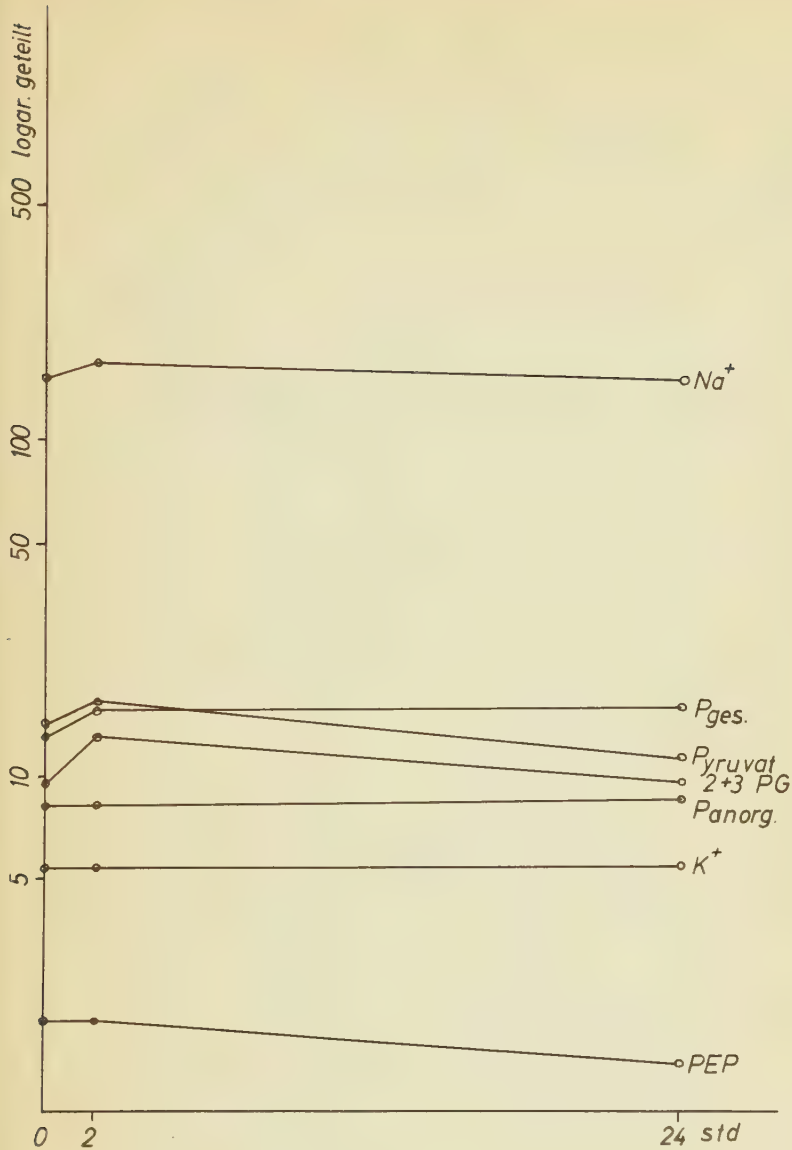


Abb. 3 Konzentrationsveränderungen im Serum bzw. Blut 2 und 24 std. nach Injektion von 100 mg 3-PG-Na bei gesunden Ratten.

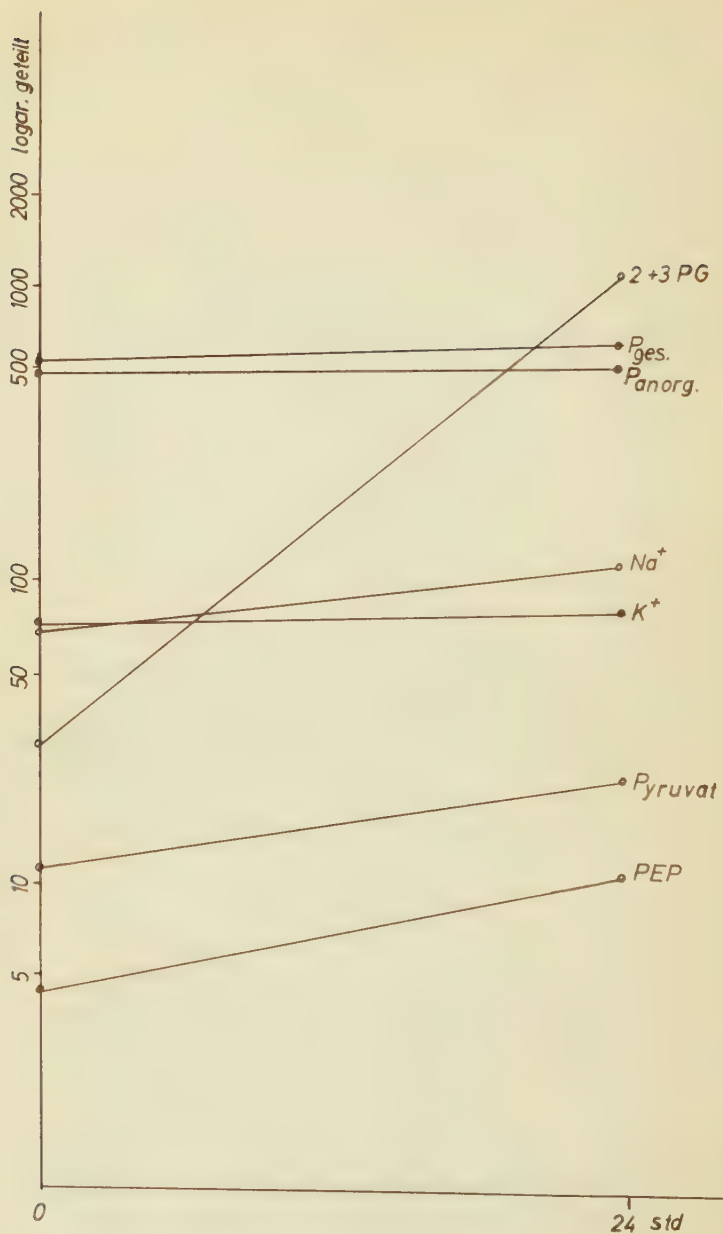


Abb. 4 Konzentrationsveränderungen im Urin 24 std. nach Injektion von 100 mg 3-PG-Na bei gesunden Ratten.

TABELLE III

Sollanstieg, Sollwert und tatsächlicher Anstieg im Blut bzw. Serum
gesunder Tiere nach Injektion von 100 mg 3-PG-Na

Injiziert wurden Menge	Substanz	Mol bzw. val	Wert vor Infektion	Sollanstieg bei 50 ml EZR	Sollwert bei 50 ml EZR	tatsächl. Anstieg nach 2 Std.	% des Sollan- stiegs	tatsächl. Anstieg n. 24 Std.	% des Sollan- stiegs
0	Pyruvat	0	15,0 µg/ml	0	15,0 µg/ml	+ 2,1 µg/ml		-3,1 µg/ml	
0	PEP	0	1,9 µg/ml	0	1,9 µg/ml	0		+0,5 µg/ml	
57,2 mg	2+3-PG	307,5	9,8 µg/ml	+1144 µg/ml	1154 µg/ml	+ 3,9 µg/ml	0,3%	+0,2 µg/ml	0,02%
0,37 mg	P _{anorg.}	12	8,5 mg%	+ 0,74 mg%	9,24 mg%	0	0	+0,3 mg%	40 % (bzw. 0,9% d. Ges. P
9,9 mg	P _{ges.}	319	13,8 mg%	+19,8 mg%	33,6 mg%	+ 2,4 mg%	12 %	+2,7 mg%	14 %
961 val	Na	961	164 mval/l	+19,2 mval/l	183,2 mval/l	+16 mval/l	83 %	+5 mg%	26 %
0	K	0	5,5 "	0	5,5 mval/l	0		0	

TABELLE IV

Sollanstieg, Sollwert und tatsächlicher Anstieg im Urin
gesunder Tiere nach Injektion von 100 mg 3-PG

Injiziert wurden Menge	Substanz	Mol bzw. val	Wert vor Injektion	Sollan- stieg	tatsächl. Anstieg	% des Soll- anstiegs
0	Pyruvat	0	11,8 µg/ml	0	11,2 µg/ml	
0	PEP	0	4,5 "	0	6,6 "	
57,2 mg	2 + 3 - PG	307,5	29,9 "	9862 µg/ml	1090 "	11 %
0,37	P _{anorg.}	12	511,8 mg %	6,4 mg%	39 mg%	610 % (bzw. 23% d. Ges. P)
9,9 mg	P _{gesamt}	319	585,2 mg %	170,7 "	90,6 "	53 %
961 val	Na	961	71,8 mval/l	165 mval/l	50,2 mval/l	30 %
0	K	0	73,0 mval/l	0	13,0 mval/l	

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Aus den obenstehenden Befunden ist ersichtlich, daß im Blut nach 24 Stunden, aber auch schon nach 2 Stunden kaum mehr 2 + 3 - PG nachzuweisen ist. Es ist jetzt nachzuprüfen, welcher Art das Schicksal dieser Verbindung ist.

Verschiedene Wege sind denkbar:

- a) Abbau im Blut bzw. im extracellulären Raum
- b) Ausscheidung durch die Niere oder durch den Darm
- c) Eintritt in den intracellulären Raum mit eventuell nachfolgendem Abbau.

Aus den Meßergebnissen kann gefolgert werden, daß ein gewisser Teil des im verabreichten 2 + 3 - PG veresterten Phosphats in andere organische Phosphorverbindungen des Serums übergegangen ist, wie aus dem Anstieg des Gesamtphosphats um 12 bzw. 14 % der injizierten Menge hervorgeht. Welcher Art diese Verbindungen sind, ist schwer zu sagen. Verbindungen, die am Anfang der Glykolysekette stehen, dürften wegen der ungünstigen Lage der Gleichgewichte bzw. der Coenzymkonzentrationen nur im beschränkten Maße hierfür in Frage kommen. Wahrscheinlicher ist die Umwandlung in andere phosphorylierte Verbindungen eventuell unter Zuhilfenahme von zwischenzeitlich gebildeten ATP.

Die andere mögliche Form des Abbaus, nämlich die phosphatatische Spaltung unter Freisetzung von anorganischem Phosphat, scheint bei 3-PG im Serum wohl nur eine geringere Rolle zu spielen, denn selbst nach 24 Stunden ist ein Anstieg des anorganischen Phosphats nur um 0,9 % der injizierten Menge Gesamtphosphat feststellbar. Dies hat freilich zur Voraussetzung, daß die Resorption von anorganischem Phosphat aus dem EZR relativ langsam erfolgt. Jedoch wird diese Behauptung durch den fehlenden Anstieg des anorganischen Phosphats im Serum nach 2 Stunden unterstützt.

Vergleicht man die Natrium- mit der Phosphatbilanz, so sieht man, daß das injizierte Natrium wesentlich langsamer als das Gesamtphosphat aus der Extracellulärflüssigkeit bei gesunden Tieren verschwindet. Man kann diskutieren, ob diese Beobachtung Möglichkeiten zum Einsatz von 3-PG als Alkalisierungsmittel eröffnet. Von der injizierten 3-PG erscheint nur ein geringer Teil (11 %) unverändert im Harn. Der größte Teil dieser Verbindung beschreitet andere Stoffwechselwege. Für das Kohlenstoffgerüst der 3-PG ist die Veratmung im Zitronensäurezyklus am wahrscheinlichsten.

Bei diesem Wege der Verwertung wird neben dem Esterphosphat auch noch das gesamte Kohlenstoffgerüst über die oxydative Phosphorylierung zur Energiegewinn-

nung nutzbar gemacht. Etwa die Hälfte des verabreichten Gesamtphosphats, nämlich 53 %, erscheint innerhalb von 24 Stunden im Harn. 23 % sind anorganisches Phosphat, 30 % liegen in organischen Bindungen oder als Polyphosphat vor (eine Differenzierung ist bei dieser Versuchsanordnung nicht möglich). Offensichtlich gibt der Organismus den Überschuß an Phosphaten, der nicht metabolisiert werden kann, auf renalem Wege ab. Daneben ist auch eine Darmausscheidung denkbar (s. weiter unten).

Ebenfalls erscheint ein nennenswerter Anteil des verabreichten Natriums im Urin. Doch ist (bezogen auf das Gesamtphosphat) die ausgeschiedene Natriummenge relativ geringer, als sie im verabreichten 3-PG-Na vorlag. Das ausgeschiedene Phosphatanion führt somit z. T. andere Kationen mit, die nicht bei der Applikation verabreicht wurden. Ein Teil von ihnen sind Kaliumionen, die der Organismus auf diese Weise ausscheidet.

Wir haben in den vorliegenden Versuchen die Ausscheidung im Kot nicht gemessen. Es ist darum keine Aussage möglich, wie weit diese Ausscheidungsform die renale Ausscheidung ergänzt. In Bezug auf Alkaliionen könnte immerhin eine Beseitigung des durch die zu geringe renale Ausscheidung gegebenen Überschusses erfolgen. Was jedoch die weit wichtigere Frage anlangt, ob eventuell 3-PG unverändert im Kot ausgeschieden wird, liegen jedoch Befunde bei nephrektomierten Tieren vor (MATOUSCHEK (32)), die unter anderem zeigen, daß eine unveränderte Ausscheidung von 3-PG im Kot keine Rolle spielt. Das unterstützt die oben aufgestellte Hypothese, daß 3-PG metabolisiert wird.

ZUSAMMENFASSUNG

D-3-Phosphoglycerat-Natrium (3-PG-Na) wurde bei gesunden Ratten injiziert und die Bestimmungen von 2 + 3 - Phosphoglycerinsäure, Phosphoenolbrenztraubensäure, Pyruvat, Gesamt- und anorganischem Phosphat, Natrium und Kalium durchgeführt.

1. Nach 2 und 24 Stunden ist kaum mehr 2 + 3 - Phosphoglycerinsäure im Blut nachzuweisen, nur ein geringer Teil (11 % des injizierten 3-PG-Na) erscheint unverändert im Urin.
2. Ein geringer Anstieg von Gesamtposphat im Blut ist nach 2 bzw. 24 Stunden feststellbar, der Gehalt an anorganischem Phosphat steigt praktisch nicht an. 53 % des verabreichten Gesamtposphats erscheinen im Urin, und zwar 23 % als anorganisches Phosphat, 30 % als organisch gebundenes Phosphat.
3. Das injizierte Natrium verschwindet verhältnismäßig langsam aus dem Blut (nach 2^h sind 83 %, nach 24^h 26 % der injizierten Menge noch vorhanden), 30 % der injizierten Menge sind nach 24 Stunden im Harn nachweisbar.

Die Bedeutung dieser Befunde wurde diskutiert.

Es ergeben sich Hinweise, daß 3-PG rasch als solches aus der Blutbahn verschwindet. Hingegen existieren keine stichhaltigen Gründe für die Annahme, daß 3-PG vorzugsweise im Blut selbst abgebaut wird.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AKANO: Biochem. Zschr. 280 , 110 (1935)
2. AMMON, R. und DIRSCHERL, W.: Band I. Fermente. Georg Thieme Verlag Stuttgart 1959
3. BERLINGER, R.W., KENNEDY, T.J. and ORLOFF, J.: Relationship between acidification of the urine and protossium metabolism. Am.J.Med. 11, 274 (1951)
4. BERNARD, H. et CAJDOS, A.: Activité métabolique du rein et son rôle dans l'encétion urinaire Paris: Masson et Cie (1954)
5. BOEREN, E., LOND, P. A. A.: Preliminary communication on a conductri - natric screening test for elektrolytes. J.Clin.Path. 9, 173-175 (1956)
6. BÜCHER: Biochem.biophysica acta, N.Y. 1, 292 (1947)
7. CASAS VICENTE, M.: Concepros actuales el metabolismo del potasio y sus alteraciones. K.Rev.clin.espan. 65, 194-203 (1957)
8. CORT, J. und FENCL, V.: Physiologie der Körperflüssigkeiten VEB G. Fischer Verlag Jena (1958)
9. COWGILL, R.W. and PILZER, L.I.: Purification and some properties of phosphoryl - glyceric acid mutase from rabbit skeletal muscle. J.Biol.Chem. 223, 885 (1956)
10. CZOK, R., und ECKERT, L.: In H.-U. Bergmeyer - Methoden der enzyma tischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim 1962
11. DISCHIE, Z., LANDSBERG, E. A.: A colometric procedure for the determi - nation oft triose phosphate and fructose-1,6- diphosphate in presence of other sugars. Biochem.Biophys. Acta (Amst.) 39, 144-147 (1960)

12. FAWCETT, J. K., and WYMM, V.: Variation of plasma electrolyte and total protein.
Brit. Med. J. Nr. 4992, 582-585 (1956)
13. FISKE, C. H. und SUBBAROW, Y.: J. biol. chem. 66, 375 (1925)
14. FLECKENSTEIN, A., GERLACH, E., JANKE, J.: Phosphorylierung und aktiver Kationentransport.
Schweiz. med. Wschr. 1041-1045 (1956)
15. FLECKENSTEIN, A.: Der Kalium-Natrium-Austausch
Springer-Verlag 1955
16. HEINTZ, R. und PFEIFFER, E. F.: Nierenfunktion und Elektrolytstoffwechsel.
Klinische Beobachtungen über Störungen ihrer Wechselwirkungen.
Mchn. med. Wschr. 102, 890-897 (1960)
17. HENCHEL, G.: Phosphat in Blut und Urin bei Nierenkrankheiten.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 63, 673-676 (1957)
18. HILDEN, T.: Kaliumstoffwechsel und Nierenfunktion.
Ugeskr. Laeg. 1958, 468-471 (Dänisch)
19. HOLGNE, R.: Nieren und Kaliumstoffwechsel.
Schweiz. med. Wschr. 89, 463-464 (1959)
20. HOLZER, H. und GOEDDE, H. W.: Zwei Wege von Pyruvat zu Acetyl-Coenzym A in Hefe.
Biochem. Z. 329, 175-191 (1957)
21. KALCKAR, H.: Chem. Rev., 28, 71 (1941)
22. KARLSON, R.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1961
23. KLEINSCHMID, A. und HÄUZE, S.: Die Analysen der Nierenfunktion.
Grundlagen und klinischer Aussagewert.
Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. N. F. 14, 239-320 (1960)
24. KRAMER, K., ULLRICH, K. J.: Nierensymposion
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1960

25. KRAMER, K.: Fortschritte der Nierenphysiologie.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 268, 39-42 (1958)
26. LANDENDORF, H.: Die Beziehungen zwischen Ernährung und Mineralstoffwechsel mit besonderer Berücksichtigung des Säure-Basengleichgewichts.
Med.u. Ernährung 1, 104-108, 126-128 (1960)
27. LEUTHARDT, F.: Lehrbuch der Physiologischen Chemie
W.de Gruyter u.Co, Berlin 1961
28. LICHTWITZ, A., DAR- Le métabolisme du phosphore dans ses rapports
LIER, R. et CLEMENT, D.: avec celui du calcium.
Rev.Rhumat. 24, 163-176 (1957)
29. LIPPMANN, F.: Advances Enzymol. 1, 99 (1941), 6, 231
(1946)
30. LOHMANN, K. und Über die enzymatische Umwandlung von Phos-
MEYERHOF, O.: phoglycerinsäure in Brenztraubensäure und
Phosphosäure.
Biochem. Zschr. 273, 60 (1934)
31. LOTSPEICH, W.D.: Kidney water and electrolyte metabolism.
Annual Rev. Physiol. 20, 339-376 (1958)
32. MATOUSCHEK, E.: Über den Einfluß phosphorylierter C-3-Körper
auf den Stoffwechsel urämischer Tiere.
München 1963
33. McQUATE, J.T. and Equilibrium and Kinetic Studies of the Pyruvic
UTTER, M.F.: Kinase Reaktion
J. Biol. Chem. 234 2151 (1959)
34. MERRILL, J.P.: Die Behandlung der Nierensuffizienz.
Verlag von Urban u. Schwarzenberg
München und Berlin (1959)
35. MERTZ, D.P.: II. Beziehungen zwischen intracellulärem Flüssigkeitsvolumen und renaler Elektrolytausscheidung
Klin. Wschr. 38, 274-278 (1960)

36. MERTZ, D.P.: Die Extracelluläre Flüssigkeit
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1962
37. MEYERHOF and OESPER, : J.Biol.Chem. 179, 1371 (1949)
38. MEYERHOF, O. and OESPER, P.: The Enzymatic Equilibria of phospho-enolpyruvate.
J.Biol.chem. 179, 1371 (1949)
39. MEYERHOF, O. und KIESSLING, W.: Biochem.Zschr. 280, 99 (1935)
40. MEYERHOF, O. und KIESSLING, W.: Biochem.Zschr. 276, 239 (1935)
41. MOELLER, J.: Die praktisch wichtigen Nierenfunktionsproben.
Z.ärztl. Fortbild. 48, 756-764 (1959)
42. OLIVER, J.: The structure of the metabolic process in the nephron.
J.Mt.Sinai Hosp. 15, 175 (1948)
43. PELEGER, K. und SEIFEN, E.: Zur Frage der Stoffwechselabhängigkeit des Phosphatdurchtritts durch die Erythrocytenmembran.
Biochem.Z. 335, 595-605 (1962)
44. PFLEIDERER, Th., OTTO, P. und HARDEGG, W.: Zur Bestimmung des Kaliumspiegels im Blutplasma.
Klin.Wschr. 37, 39-42 (1959)
45. PITTS, R.F. and ALEXANDER, R.S.: The nature of the renal tubular mechanism for acidifying the urine.
Am.J.Physiol. 144 239 (1945)
46. REIN, H. und SCHNEIDER, M.: Physiologie des Menschen
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960
47. ROSE, I.A.: Studies on the Enolization of Pyruvate by Pyruvate Kinase
J.Biol.Chem. 235, 1170 (1960)

48. ROSCOE, M. H.: The biphasic response of solute excretion to changes in urine flow.
Acta med. scand. (Stockh.) 156, 277-294 (1956)
49. SARRE, H.: Nierenkrankheiten, Physiologie, Pathologie, Untersuchungsmethoden, Klinik und Therapie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1959
50. SUTHERLAND, E. W., POSTERNAK, T. and CORI, C. F.: Mechanism of the Phosphoglyceric Mutase Reaktion.
J. Biol. Chem. 181, 153 (1949)
51. WALKER, HUDSON, FINDLEY und RICHARD: Am. J. Physiol. 118, 121 (1937)
52. WARBURG, O. und CHRISTIAN, W.: Isolierung und Kristallisation des Gärungsfermentes Enolase.
Biochem. Zschr. 310, 384 (1941/42)
53. WARBURG, O., CHRISTIAN, W.: Biochem. Zschr. 287, 291 (1936)
54. WOLDT, F. and BALLON, C. E.: Studies on the Enzyme Enolase
I. Equilibrium Studies
II. Kinetic Studies
J. Biol. Chem. 227, 301-328 (1957)
55. ZÖLLNER, N.: Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1957

Herrn Prof. Dr. med. Ferdinand MAY danke ich für die Möglichkeit der Durchführung meiner Dissertation an seiner Klinik.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. et. rer. nat. Erich MATOUSCHEK danke ich für die Überlassung des Themas und für seine großzügige Unterstützung und Beratung sowie für sein förderndes Interesse am Fortgang der Arbeit.

Herrn Dr. rer. nat. Gerhard MICHAL von der Firma C. F. Boehringer und Söhne, Mannheim, Biochemische Abteilung Tübingen, gilt mein aufrichtiger Dank für seine wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 23.12.1936 wurde ich, Johanna Jannuli, als Tochter des Oberstleutnant Georg Jannulis und seiner Ehefrau Athena, geb. Sitela in Trikala - Griechenland - geboren.

Nach zwölfjährigem Besuch der Volksschule und des klassischen Mädchengymnasiums in Volos legte ich im Juli 1955 die Reifeprüfung ab.

Im August 1957 kam ich nach München, wo ich zunächst mich dem Studium der deutschen Sprache widmete. Im Wintersemester 1957/58 habe ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität München immatrikuliert.

Am 28.4.1959 legte ich in München die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab.

Das Physikum bestand ich im Wintersemester 1960/61 in Würzburg.

Das Staatsexamen habe ich am 1.3.1965 in München bestanden

